

# 大鼠器官中 MRI 增强试剂弛豫度的测量

谢狄霖<sup>1</sup>, KENNAN Richard<sup>2</sup>, 陈忠<sup>3</sup>, GORE John<sup>2</sup>

(1. 福建省医学科学研究所, 福建 福州 350001; 2. 耶鲁大学 医学院, 美国 New Haven CT 06510;  
3. 厦门大学 化学系, 福建 厦门 361005)

**摘要:** 测量了钆螯合物的磁共振成像(MRI)对比度增强试剂钆双胺(omniscan)在大鼠不同组织, 包括肝、脾、肾、心脏、肌肉和血液中的核磁共振(NMR)弛豫度, 以及在不同的大分子介质环境, 如小牛血清白蛋白(BSA)和甲基纤维素(MC)溶液中的弛豫度。实验数据表明: 增强试剂钆双胺在小鼠的不同组织中的弛豫度互不相同, 在大分子介质溶液中弛豫度随介质大分子浓度的增大而提高。

**关键词:** 磁共振成像; 弛豫度; 增强试剂

中图分类号: O614.339; O657.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2005)03-0022-03

## Measurements of the Relaxivity of Contrast Agent in Rat Tissues

XIE Di-lin<sup>1</sup>, KENNAN Richard<sup>2</sup>, CHEN Zhong<sup>3</sup>, GORE John<sup>2</sup>

(1. Medical Science Research Institute of Fujian Province, Fuzhou 350001, China; 2. School of Medicine, Yale University, New Haven, CT 06510, USA; 3. Department of Chemistry, Xiamen University, Xiamen 365001, China)

**Abstract:** With a paramagnetic gadodiamide contrast agent, NMR relaxivity was measured in rat tissues such as liver, spleen, kidney, heart and blood, as well as in various media of macromolecules such as methyl cellulose and albumin. The results of this study demonstrate that the relaxivity varies between different tissues and increases with the concentration of macromolecules.

**Key words:** MRI; Relaxivity; Contrast agent

核磁共振(NMR)弛豫度(relaxivity)指每单位浓度的对比度增强试剂(又称对照试剂)所引起的弛豫速率的变化值, 它是评价成像对比度增强试剂的效能的一个重要参数, 弛豫度越高, 增强试剂的性能就越好。

Stanisz 和 Henkelman<sup>[1]</sup>的实验证实: 钆螯合物的顺磁性 MRI 对比度增强试剂马根维显(Gd-DTPA)的弛豫度会随着样品中大分子的存在而增大。Shuter 等人<sup>[2]</sup>也证明了增强试剂 Gd-EOD-DTPA 在活体中弛豫度变化的事实。Johnson 等人<sup>[3]</sup>证明, 当把 Gd-DTPA 导入红细胞内时, 它的弛豫度变小, 这种变化反映了组织的间室效应。目前国内关于 MRI 对比度增强试剂弛豫度的研究还少见报道。本文测量并比较了钆螯合物的顺磁性成像对比度增强试剂钆双胺(omniscan)在大鼠不同组织中以及在小牛血清白蛋白(BSA)和甲基纤维素(MC)等大分子介质中的弛豫度。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

IBM PC/20 核磁共振光谱仪, 永磁磁体, 磁场强度为 0.47T, 美国 IBM 公司制造。PE-300 电感耦合等离子体原子发射光谱仪(ICP-AES), 美国 Perkin-Elmer 公司制造。

对比度增强试剂钆双胺(omniscan)由美国 Nycomed Puerto Rico, Inc. 制造, 其分子结构式如图 1 所示, 它的中心是 1 个钆的 3 价离子  $Gd^{3+}$ , 周围环绕着 N、O、C、H 组成的螯合物的屏蔽层, 形成各向同性的磁化率张量, 从而既能迅速缩短周围质子的弛豫时间, 又能减弱钆

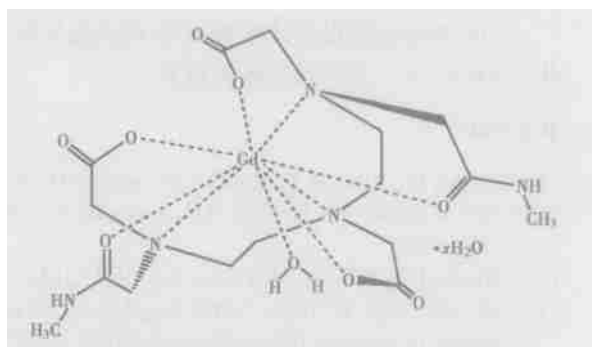


图 1 增强试剂钆双胺的分子结构式  
Fig. 1 The molecular structural formula of contrast agents omniscan

收稿日期: 2004-06-12; 修回日期: 2005-02-03

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目(C0110024); 国家自然科学基金资助项目(20172042)

作者简介: 谢狄霖(1946-), 男, 福建长乐人, 研究员, 硕士, Tel: 0591-87529204, E-mail: dilin@pku.org.cn

离子中未成对电子产生的局部磁场的干扰,因而适合于临床应用。

## 1.2 弛豫度的计算方法

核磁共振弛豫度表示增强试剂每单位浓度的改变引起弛豫速率的变化。样品中增强试剂的浓度  $c_p$ , 添加增强试剂前后样品的纵向弛豫时间  $t_{10}$ ,  $t_{1p}$  (或横向弛豫时间  $t_{20}$ ,  $t_{2p}$ ) 与纵向弛豫度  $R_1$  (或横向弛豫度  $R_2$ ) 之间的关系式如下:

$$t_{ip}^{-1} = t_{i0}^{-1} + R_i \cdot c_p \quad (i=1 \text{ 或 } 2)$$

以样品溶液中增强试剂的浓度为横座标,测得的相应浓度样品的弛豫速率为纵座标,应用最小二乘法指数拟合得到的拟合直线的斜率,就是弛豫度的值<sup>[4]</sup>。样品中增强试剂的浓度的单位为  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 弛豫度的单位为  $\text{L} \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 。如果  $R_i$  值已知,则增强试剂的浓度  $c_p$  便可以计算出来,这可用于临床计算增强试剂的正确使用量。

## 1.3 实验步骤

**1.3.1 测量样品的弛豫时间** 8只体重在 200~300 g 之间的雄性大鼠经肌肉注射 2% 的三氟溴氯乙烷麻醉,并供给 60% 氧和 40% 氮混合气体用于呼吸,分别按 0~3.5 mmol/kg 的 8 种不同剂量通过尾部静脉注射入钆双胺增强试剂,30 min 后大鼠被处死,并采摘体内肝、脾、肾、心脏等器官组织和血液的样品。各器官组织样品采摘后印干,其中肾和心脏经轻揉以去除残余的血和尿液后印干,分别切取一小块(约重 3 g),放入 13 mm 的 NMR 试管中,加盖待测。样品的 NMR 弛豫时间  $t_1$  和  $t_2$  测量在共振频率为 20 kHz 的核磁共振光谱仪上,分别采用反转-恢复脉冲序列和 CPMG 脉冲序列进行。保持实验室恒温,使仪器样品腔内的温度稳定在 30 °C。样品管先置 30 °C 水浴预热 10 min 后再放入样品腔内,平衡 5 min 后再开始测量。每份样品的弛豫时间  $t_1$  和  $t_2$  各重复测量 3 次,再分别取平均值。

**1.3.2 测量样品中钆双胺的浓度** 测量好弛豫时间后,将每份样品切成 3 块(各约重 1 g),分别精确称重后放入 110 °C 的烘箱中干燥直至恒重,样品的干湿重量之差即为样品中组织水的含量。将干燥后的样品分别用 0.5 mL 热硝酸进行完全消化,然后渗入 50  $\mu\text{L}$  10.0 mg/mL 的氧化钆作为内标,最后加水定容至 5 mL,用 ICP-AES 在发射波长 342.28 nm 处测量其中 Gd 的信号强度。另配制相同浓度范围的钆双胺以及硝酸和氧化钆的标准溶液,上机测量其中 Gd 的信号强度,运用最小二乘法的指数拟合求得标准曲线。利用标准曲线和各待测样品提取液的 Gd 信号强度可计算出各样品提取液中钆双胺的含量。各器官组织水中钆双胺的含量等于样品组织中钆双胺的总量除以组织水的总量。另外采集未经钆双胺注射的大鼠的血、肝、脾、肾、心脏等器官组织,分别掺入 0.01 mmol 的钆双胺研磨混匀,并按上述相同步骤,经烘烤、消化,测量,计算其中钆双胺的总量  $n_i$  (mmol)。用于计算其回收率  $R_e = (n_i/0.01) \times 100\%$ ,以验证该实验方法的精确度。

**1.3.3 计算器官样品中钆双胺的弛豫度** 对经 8 种不同剂量钆双胺注射过的 8 只大鼠的同一种器官的样品重复上述测量步骤,以对 8 个该种器官样品分别测得的组织水中钆双胺的浓度为横座标值,对应测得的弛豫速率为纵座标值,应用最小二乘法指数拟合得到的拟合直线的斜率,就是钆双胺在该种器官中的弛豫度值<sup>[4]</sup>。

**1.3.4 测量大分子介质溶液中钆双胺的弛豫度** 在大分子介质溶液的实验中,将 0~30% (w) 的小牛血清白蛋白(BSA),以及粘滞度分别为 0.015 Pa·s 和 4 Pa·s 的甲基纤维素,分别添加入钆双胺溶液中,然后分别测量其弛豫度的变化。以观察大分子介质对增强试剂钆双胺弛豫度的影响。

## 2 结果与讨论

### 2.1 实验结果

经实验测量,大鼠的肝、脾、肾、心脏、肌肉和血液中的组织水的质量分数(w/%)依次为(72.2±1.3)%、(76.3±1.5)%、(79.5±0.7)%、(76.7±1.2)%、(75.3±0.8)%、(80.2±1.8)%,平均为(76.7±2.91)%。它们相互间差别不大,其中血液的含水率最高,肝最低。

利用 ICP-AES 测量各器官提取液中钆双胺的回收率在 97.8%~101.2%之间,平均为(99.2±1.3)%,说明该实验设计合理、测量准确。

表 1 列出了增强试剂钆双胺在大鼠器官组织、血液以及纯水中测得的自旋—晶格弛豫度  $R_1$  和自旋—自旋弛豫度  $R_2$ ，测量结果以  $L \cdot mmol^{-1} \cdot s^{-1}$  为单位。结果表明钆双胺在血液与纯水中的弛豫度相似，而在小鼠不同器官组织中却各不相同，相差好几倍，其中肾最高，肌肉最低。

表 2 列出了在  $25^\circ C$  的室温环境下，钆双胺分别在 25%(w)BSA、25%(w)粘滞度为  $4 Pa \cdot s$  的甲基纤维素(MC)和 25%(w)粘滞度为  $0.015 Pa \cdot s$  的 MC 等大分子溶液中，测得的自旋—晶格和自旋—自旋弛豫度。在存在大分子的情况下，钆双胺的弛豫度比纯水中要高出约 30%。

表 3 表明增强试剂钆双胺的自旋—晶格弛豫度  $R_1$  和自旋—自旋弛豫度  $R_2$  的测量值随溶液中添加的 BSA 含量的提高而增加。

## 2.2 讨论

本文关于增强试剂在老鼠器官组织中弛豫度的研究数据表明：对纯水和血液样品中钆双胺的弛豫度的测量结果与相关文献报道值符合<sup>[5]</sup>。除了血液和肾，多数器官组织测得的弛豫度  $R_1$  和  $R_2$  都不及纯水中测量值的一半。器官组织中的弛豫度的减少与 Johnson 等人<sup>[3]</sup> 先前的报道一致。而大分子存在下弛豫度的增加也符合 Stanis 和 Henkelmen<sup>[1]</sup> 先前的发现。仪器测量得到的生物组织水的弛豫速率是样品内各种环境水的弛豫速率的平均值。考虑到生物组织中水的存在形式各不相同，器官组织中弛豫度的减少可能是由于器官中组织水多为束缚水不易接近金属螯合物的缘故，也可能是由于器官组织中存在一些化学核素与组织水相竞争，阻碍了水与金属螯合物的相互作用。这些效应都可能降低由于慢速翻转运动或者象大分子存在等其它过程引起的弛豫度的增强效果。由于肾器官中具有较大的空间容纳增强试剂，因而通常有更大的弛豫度值。通过计算机定量多指数拟合分解等一些较复杂的弛豫数据的分析方法，可以进行细胞间室效应的研究。

在活体中较难进行弛豫度的定量研究，因此在许多研究中，都将活体和离体组织的弛豫度假设为相等的。最近研究已经证实：多数含钆(Gd)以及含锰(Mn)的增强试剂在不同环境中会显示不同的增强程度，即具有不同的弛豫度<sup>[6]</sup>。因为活体内顺磁偶极相互作用的主要相关时间的改变，比如发生耦合效应等，都会引起增强效应的变化。所以当用离体器官中增强试剂的弛豫度的测量值代替活体器官内增强试剂的弛豫度的测量值时，应当谨慎。

参考文献：

- [1] STANISZ G J, HENKELMAN R M. [J]. Magnet Reson Med, 2000, 44(5): 665—667.
- [2] SHUTER B, WANG S C, ROCHE J, *et al.* [J]. J Magn Reson Imaging, 1998, 8(4): 853—861.
- [3] JOHNSON K M, TAO J Z, KENNAN R P, *et al.* [J]. Magn Reson Med, 2001, 45(5): 920—923.
- [4] XIE Dilin, CHEN Zhong, GORE John. [J]. Journal of Instrumental Analysis(谢狄霖, 陈 忠, GORE John. [J]. 分析测试学报), 2004, 23(5): 48—50.
- [5] MORKENBORG J, PEDERSEN M, JENSEN FT, *et al.* [J]. Magn Reson Imaging, 2003, 21(6): 637—643.
- [6] SUN G, FENG J, WU H, *et al.* [J]. J Magn Reson Imaging, 2004, 22(3): 421—426.

表 1 不同大鼠器官中的钆双胺弛豫度

Table 1 The omniscan relaxivity in different rat tissues

Sample	$R_1/(L \cdot mmol^{-1} \cdot s^{-1})$	$R_2/(L \cdot mmol^{-1} \cdot s^{-1})$
Water(纯水)	4.35	5.41
Blood(血液)	4.34	5.95
Liver(肝)	1.24	2.95
Spleen(脾)	1.27	1.34
Kidney(肾)	5.78	8.82
Heart(心脏)	1.43	2.38
Muscle(肌肉)	0.97	2.55

表 2 在几种大分子溶液中测得的钆双胺弛豫度

Table 2 The omniscan relaxivity in macromolecule solutions

Sample	$R_1/(L \cdot mmol^{-1} \cdot s^{-1})$	$R_2/(L \cdot mmol^{-1} \cdot s^{-1})$
25% BSA	6.3	9.2
25% MC ( $4 Pa \cdot s$ )	5.6	8.5
25% MC ( $0.015 Pa \cdot s$ )	5.5	8.1

表 3 钆双胺的弛豫度随溶液中 BSA 含量的提高而增加

Table 3 Increase of the omniscan relaxivity increased with the concentration of BSA solution

	Content w/%					
	0	5	10	15	20	25
$R_1/(L \cdot mmol^{-1} \cdot s^{-1})$	4.31	4.74	5.15	5.51	5.89	6.30
$R_2/(L \cdot mmol^{-1} \cdot s^{-1})$	5.41	6.22	6.84	7.38	8.25	9.23